云 南 植 物 研 究　1996; 18 (2): 167～175
Acta Botanica Yunnanica

多辐溲疏群体同工酶变异的数量分析*

何 平+ 谈 锋
(西南师范大学生命科学系，重庆北碚 630715)

摘要 研究了四川南川金佛山特产的多辐溲疏 (*Dentzia multiradiata*) 不同海拔和生境的 5 个群体的 41 个个体叶片过氧化物酶、过氧化氢酶、酯酶、淀粉酶、柠檬酸脱氢酶及谷氨酸脱氢酶同工酶谱带位置上的变异式样。来自同一群体的不同个体在谱带上表现出极大的相似性，而来源于不同群体的个体却表现出明显的趋异性，显示出酶谱带位置与群体生长的生境有显著的相关性，一定的群体具有某些特有的酶谱带。空间隔离限制了群体间个体的相互基因交流，在进化中那些适应新的生境的遗传变异体得以保存下来，致使群体间在酶谱上愈来愈不同。而同一群体内植株间通过异花传粉虽能在个体间实现频繁的基因交流而增加其遗传变异性，但这种遗传变异性多数不能通过种子繁殖方式固定下来。南川金佛山目前虽能为该种提供少数岛屿状的适宜生境，但如果这些生境发生变化，而该种又不能提供新的遗传变异源，则其发展前景是堪忧的。

关键词 数量分析，同工酶变异，遗传分化，群体，多辐溲疏

NUMERICAL ANALYSES OF ISOZYME VARIATION WITHIN AND AMONG THE POPULATIONS OF DEUTZIA MULTIRADIATA

HE Ping, TAN Feng
(*Department of Life Sciences, Southwest China Normal University*, Chongqing 630715)

Abstract With the electrophoretic technique, we studied the Peroxidas (PER),Catalase (CAT), Esterase (ES), Amylase (AA), Citric acid dehydrogenase (CDH) and Glutemate dehydrogenase (GDH) in leaves of 41 plants from 5 populations with different altitudes and habitats of *Deutzia multiradiata* W. T. Wang which is endemic to Mt. Jinfo of Nanchuan, China. The bands of those isozymes are scored to construct the two-state data matrix which is caculated by Jaccard, Sokal-Sneath and Sokal-Michener association coefficients clustered with UPGMA and WPGMA respectively. The result reveals that individuals from the same populatin are highly homogenous genetically interprated from bands of the six isozymes, while individuals from the different populations show highly dissimilarities in isozyme bands. It is clear that the isozyme bands of a given population are notably correlated with the habitats from which it was collected. Certain populations possess some unique isozyme bands, which can be explained by the distributive pattern and the reproductive features of the species. It distributes as scattered populations which are isolated each other spatially. Such spatial isolation largely inhabites the gene exchange among individuls

* 国家自然科学基金资助课题 39270058 及四川省青年科技基金部分资助
+ 参加野外工作的尚有晏菊芳, 龙华。
1995-03-17 收稿, 1995-08-31 修回

from different populaitons and those adapted genetic variations to these habitats are selected and remained in the volutionary process, which makes the genetic divergence among populations more obvious. The habitats here only play the role in selecting and fixing the genetic variations of populaitons adapted to that habitat. Though the remarkable hybridizations among individuals of the same population lead to more easily gene exchange and can enrich the genetic heterogeneity within the same populaton, the transferring of those rich genetic variation within the same population by means of seeds to their offsprings is nearly impossible because the species are allogamy and or xenogamy but most of the seeds it produced are abortive. The vegetative reproduction of the species causes the stronger isozyme homogeneity among individuals within the same population.

Key words Numerical analyses, Isozyme variation, Genetic differentiation, Population, *Deutzia multiradiata*

多辐溲疏 (*Deutzia multiradiata* W. T. Wang) 特产四川省南川县金佛山 (29 ° 05 ′ ， 107 ° 10 ′ E)，这种不引人注目的小灌木直到 1983 年才被发现 (王文采, 1983)，它隶属于绣球花科溲疏属 (*Deutzia* Thunberg) 溲疏组 (Sect. *Deutzia*)的伞花亚组 (Subsect. *Cymosae* Rehder), 该种不但有着与同亚组其它种明显不同的形态学特征而独立成为一个系 (Ser. *Multiradiatae* P. He) (He, 1990;何平等, 1994; 黄淑美, 1993), 而且具有一些独特的生物学特性。它的分布区域极其狭窄，迄今为止，仅在四川省南川县金佛山海拔 600～1200 m 的约 10 km^2 一非常局限的地区发现有分布。经作者多年调查, 仅存有约 800 余株, 处于濒危的状况; 它的生长对水湿条件要求苛刻, 一般生长在潮湿、常年浸水的悬崖石灰质岩石缝中，也见于河边、沟边潮湿灌丛中，其根系十分发达，能独立地生活在其它物种不能生存的坚硬的岩石缝中，却罕见能生存在有其它竟争性强的物种组成的茂密灌丛中，这是否意味着它对水分、光线及营养成份的竟争能力弱，不能与那些竟争能力特强的物种竟争，而被迫选择到其它物种不能扎根的地方去生存呢？这究竟是它的一种被动适应策略抑或是一种退化的、不适应的表现呢？众所周知，一个物种的生存和发展，不仅受外界环境条件的影响，更受内在的遗传因子的调控。多辐溲疏形态十分特殊、分布区域如此狭窄、生境要求这样苛刻，这是否有其遗传结构上的原因呢？本文根据对多辐溲疏全分布范围内 5 个不同海拔群体的 41 个个体叶片的 6 种同工酶系统的电泳分析，结合多种数量分析方法，试图阐明该种群体内与群体间同工酶谱带位置反映的遗传变异模式，并结合其分布模式及生殖特性去解释其表型上的特殊性。

材料与方法

活体植株的移植

在多次野外实地考察和采集植物标本后，于 1994 年 4 月下旬在该种全分布区范围内的四川南川金佛山不同海拔的 5 个地点采集多辐溲疏带土的活体植株 78 株于塑料盆中，运回西南师范大学生命科学系植物园阴棚中盆栽。具体采集点及生境见表 1。

笔者采样时的工作原则如下:

由于该种呈不均匀的、空间上隔离的群体散布，群体相互间隔从 200 m 到 2000 m 不等，鉴于工作量大和存活的群体已不多，移栽时仅选择了 5 个能代表该种全分布范围的、间隔 300～1500 m 不等的较合理分布的群体。每一群体自然状态下的个体数较少，一般在 15～35 之间，占据约 30～300 m^2 的区域，在每群体中随机间隔 2 m 或 2 m 以上取 15 株移栽，但由于有些群体的个体数极少，如在海拔 1200 m 的大河坝附近的一个很大范围内只有一个群体 (群体 E)，它只有 5 个个体（仅移栽了 3 株)。此外，因该种处于濒危状态，南川金佛山适宜生境本来就不多，若在一个群体中过多的移栽会对该群体的植物造成危害，

加上因移栽入植物园后部分个体死亡，故有些群体中作出同工酶的个体数偏少。

取材及样品提取

随机摘取 5 个群体中 41 个植株当年生枝条中部发育程度大致相同的功能叶片（叶片不完整或不具有相同的发育阶段的叶的植株不采用），各群体取样的植株数分别为：A（10 株），B（15 株），C（6 株），D（7 株）及 E（3 株）。将样品叶片用去离子水洗净，吸水纸吸干，称取鲜重 0.5g 剪碎后置研钵中，加入少量石英砂和 1.25 mL 提取介质（吴少伯，1979），研磨成匀浆，经 100 目尼龙纱布过滤后，在 TGL-16G 型台式离心机上以 1000×*g* 离心 15 min，上清液为提取液。

表 1 多辐溲疏受试植株采集点及生境

Table 1 The collecting spots of the living matearials of *Deutzia multiradiataand* their habitats in Mt.Jinfo of Nanchuan, China

群体	海拔(m)	采集地	生　境
A	600	三泉镇	石灰质岩缝
B	720	半河乡	潮湿灌丛
C	800	大河坝下	悬岩石缝
D	760	一号桥	阳坡灌丛
E	1200	大河坝上	碎石滩

电泳

制板　采用不连续聚丙烯酰胺小型垂直板凝胶电泳，其中过氧化物酶 (Peroxidase, PER)、酯酶 (Esterase, ES) 及谷氨酸脱氢酶 (Glutemate dehydrogenase, GDH) 分离胶浓度为 7.5%, 浓缩胶浓度为 2.5% (吴少伯, 1979)。过氧化氢酶·(Catalase, CAT)、淀粉酶 (Amylase, AA) 及柠檬酸脱氢酶 (Citric acid dehydrogenase, CDH) 分离胶浓度为 7%, 浓缩胶浓度为 3% (胡能书等, 1985)。

进样　每个样品槽中进样量为 50 μL, 经考马斯亮兰法测定其相应的蛋白质含量为 720 ± 45 μg。

电泳　开始以每槽中 1 mA 电流电泳 1 min, 然后电压升至 450V 恒压电泳至示踪染料溴酚兰走到距凝胶末端约 1 cm 处为止。

显色　过氧化物酶及酯酶按吴少伯 (1979), 过氧化氢酶、谷氨酸脱氢酶、柠檬酸脱氢酶按黄庆榴 (1985), 淀粉酶则按胡能书等(1985) 显色。

Rf 值计算和图谱绘制　显色后立即在座标纸上绘制图谱并摄影和制作干胶片作永久保存, 每种酶以一板为标准来计算 Rf 值, 其它各板以主要谱带为基础, 通过比较计算确认。

电泳结果的处理

根据绘制的酶谱带图,以酶谱带的 Rf 值依次确定谱带名，并依据数量分类中二态特征的 0／1 编码原则 (史尼斯等, 1984) 给 41 个个体的每种酶的每条带赋值，出现该条带的为 1, 未出现这条带的则为 0, 制成 41×52 的原始二态数据矩阵表。

将原始数据矩阵在国产 386DX40 微机上用 BASIC 程序进行 Jaccard, Sokal-Sneath 及 Sokal-Michner 给合系数分析, 再分别用组平均法 (UPGMA) 和加权平均法 (WPGMA) (钟扬等, 1990) 对上述结合系数聚类, 得出树状图。

结果和讨论

对 6 种同工酶谱带位置编码二态数据矩阵的 Jaccard 结合系数 (JAC) 用组平均法 (UPGMA) 聚类的结果（图 1）可知，在 JAC0.48 处可将 41 个个体划分为 3 个 (A～C) 酶谱表征群 (isozyme phenon), 而在 JAC0.58 处可进一步划分出 7 个亚表征群 (a～f), A-JAC-0.48 表征群包含了 a,b 两个亚表征群, 令人惊奇的是整个 a-JAC-0.58 亚表征群均由采自 A 群体的 1～10 号个体组成, 而 b-JAC-0.58 亚表征群也全由来自 B 群体的 11～25 号个体构成, 群体内个体间表现出酶谱带位置的很大的相似性; C-JAC-0.48 表征群由采自 D 和 E 群体的个体组成, 虽然在 d-JAC-0.58 亚表征群体中由来自 D 和 E 的不同个体群聚, 但来自同一群体的植株间在同工酶谱带位置上表现出较好的群聚; 同样, C-JAC-0.48 表征群也全由采自 C 群体

的植株组成，但它可进一步分为 e～q 3 个亚表征群，显示出 C 群体内个体间酶带上有较大的趋异。

在 Jaccard 结合系数用加权平均法 (WPGMA) 的聚类结果 (图 2) 中，可划分出 3 个 JAC-0.48 酶谱表征群 (A～C) 和 8 个 JAC-0.58 酶谱亚表征群 (a～h)，A-JAC-0.48 表征群由 a,b 和 c 3 个亚表征群构成，采自 A 群体的 1～10 号植株很好地群集在 a-JAC-0.58 亚表征群内，而来自 B 群体的 11～25 号个体构成了其余两个亚表征群；B-JAC-0.48 表征群均由采自 C 群体的 26～31 号个体组成，可分为 d～f JAC-0.58

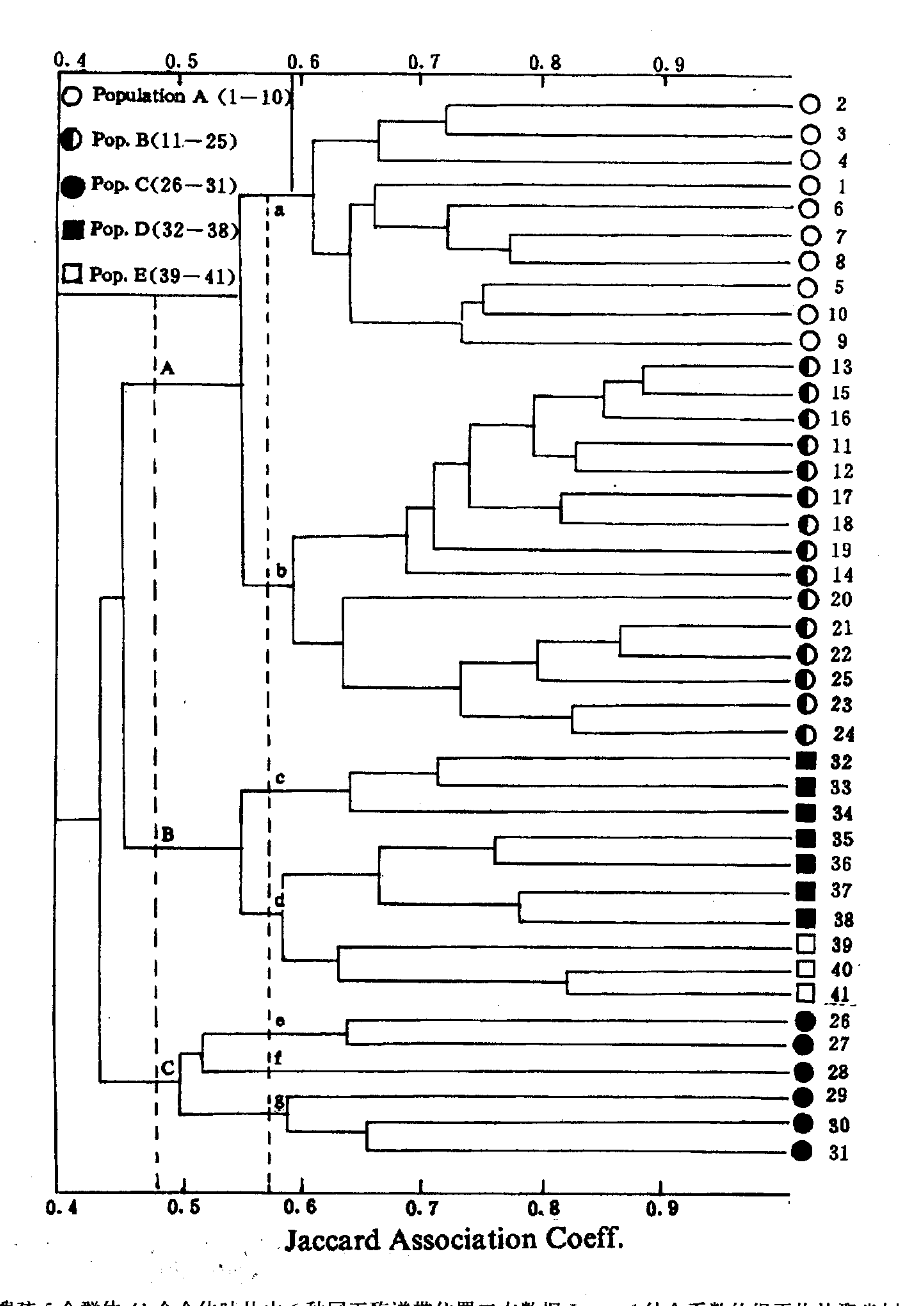


图 1 多辐溲疏 5 个群体 41 个个体叶片中 6 种同工酶谱带位置二态数据 Jaccard 结合系数的组平均法聚类树状图

Fig. 1 Dendrogram by Jaccard association coefficients clustered with UPGMA, showing electrophoretic variation interpreted from the bands of six isozymes in leaves of 41 plants in 5 populations of *Deutzia multiradiata*

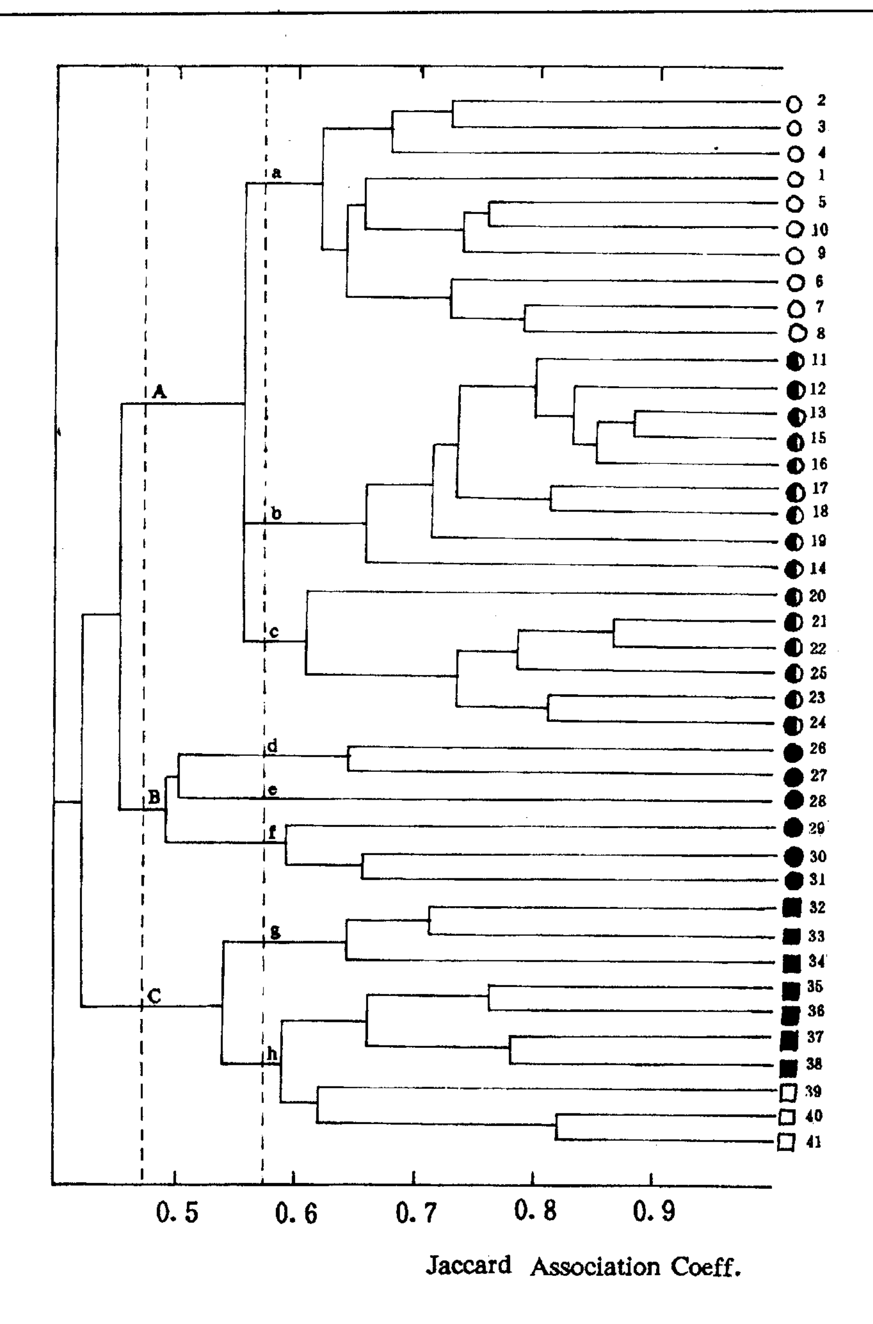
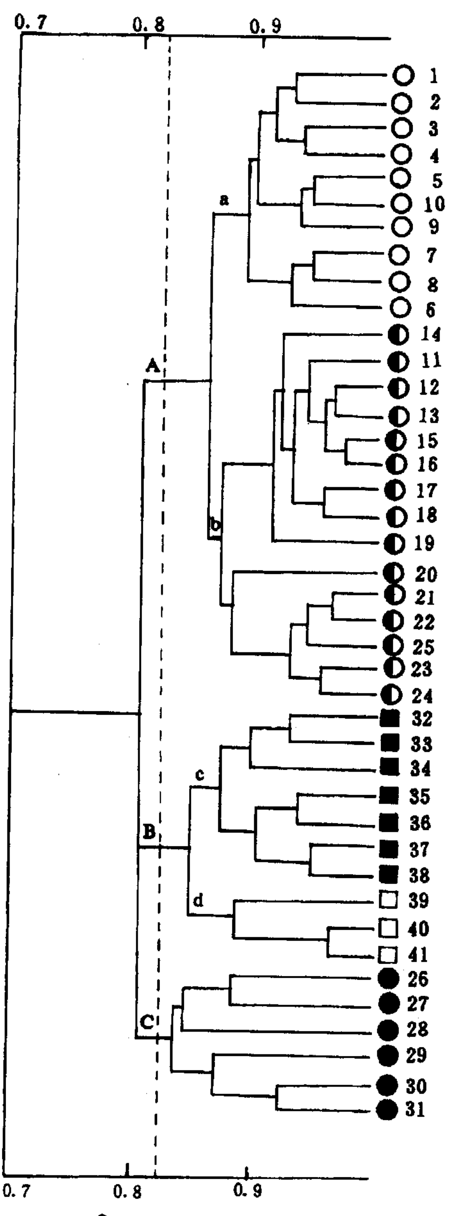


图 2 多辐溲疏 5 个群体 41 个个体叶片中 6 种同工酶谱带位置二态数据 Jaccard 结合系数的加权平均法聚类树状图

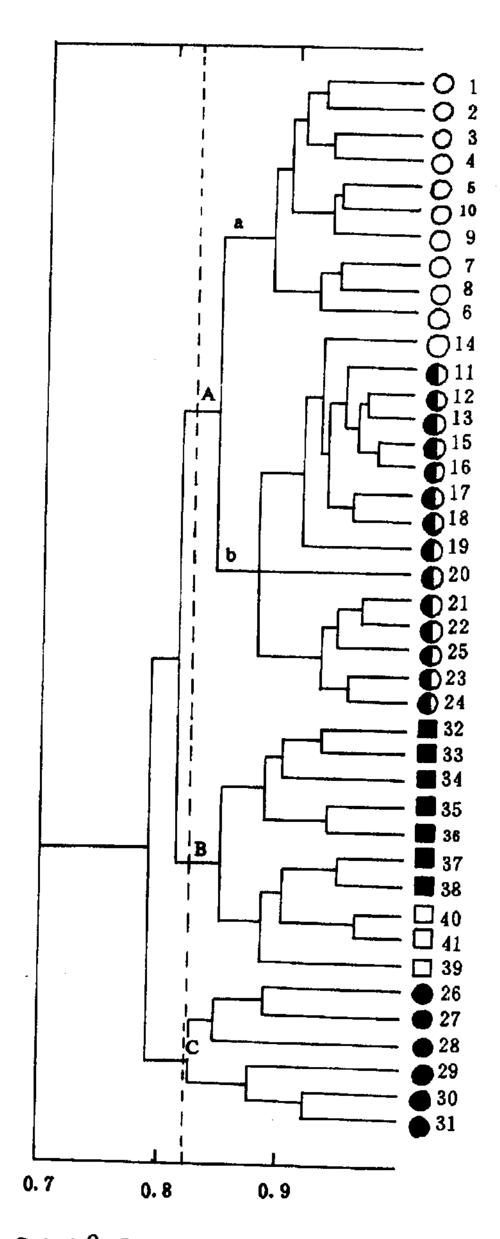
Fig. 2 Dendrogram by Jaccard association coefficients clustered with WPGMA, showing electrophoretic variation interpreted from the bands of six isozymes in leaves of 41 plants in 5 populations of *Deutzia multiradiata*



Sokal & Sneath Association Coeff.

图 3 多辐溲疏 5 个群体 41 个个体叶片中 6 种同工酶谱带位置二态数据 Sokal-Sneath 结合系数的组平均法聚类树状图

Fig. 3 Dendrogram by Sokal-Sneath association coefficients clustered with UPGMA, showing electrophoretic variation interpreted from the bands of six isozymes in leaves of 41 plants in 5 populations of *Deutzia multiradiata*



Sokal & Sneath Association Coeff.

图 4 多辐溲疏 5 个群体 41 个个体片中 6 种同工酶谱带位置二态数据 Sokal-Sneath 结合系数的加权平均法聚类树状图

Fig. 4 Dendrogram by Sokal-Sneath association coefficients clustered with WPGMA, showing electrophoretic variation interpreted from the bands of six isozymes in leaves of 41 plants in 5 populatinos of *Deutzia multiradiata*

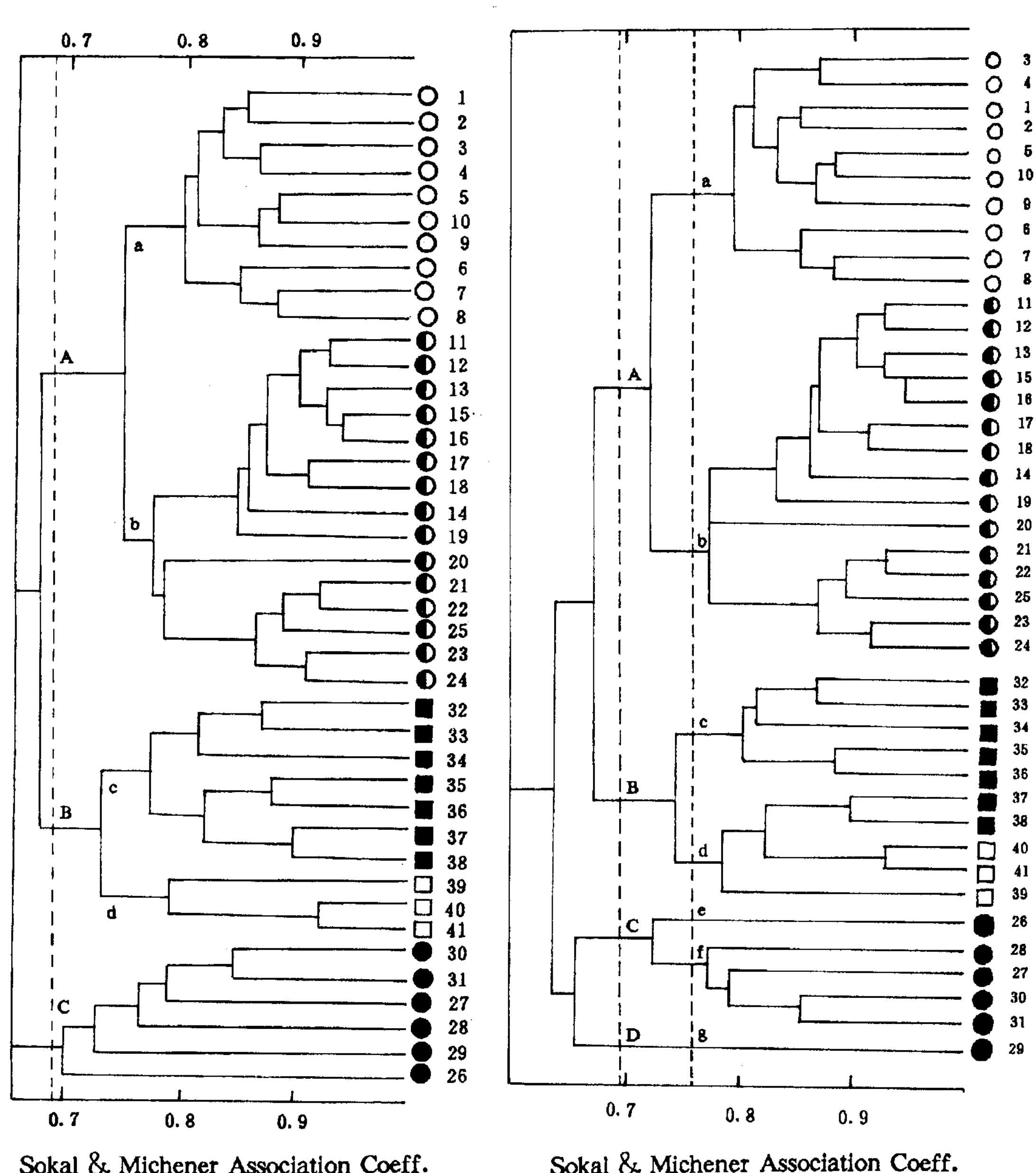


图 5　多辐溲疏 5 个群体 41 个个体叶片中 6 种同工酶谱带位置二态数据 Sokal-Michener 结合系数的组平均法聚类树状图

Fig. 5　Dendrogram by Sokal-Michener association coefficients clustered with UPGMA, showing electrophoretic variation interpreted from the bands of six isozymes in leaves of 41 plants in 5 populations of *Deutzia multiradiata*

图 6　多辐溲疏 5 个群体 41 个个体叶片中 6 种同工酶谱带位置二态数据 Sokal-Michener 结合系数的加权平均法聚类树状图

Fig. 6　Dendrogram by Sokal-Michener association coefficients clustered with WPGMA, showing electrophoretic variation interpreted from the bands of six isozymes in leaves of 41 plants in 5 populations of *Deutzia multiradiata*

3个亚表征群,表明C群体中的个体间具有较大的酶谱变异性,但其变异性还没有达到群体间酶谱差异那样大;C-JAC-0.48表征群可划分为q与h两个JAC-0.58表征群,前者为来自群体D的3个个体(第32~34号)构成,后者由采自D和E群体的7个植株组成,显示出D与E群体间部分个体的同工酶谱相似性较高。

从Sokal-Sneath结合系数(SSAC)用组平均法聚类树状图(图3)可知,5个群体的41个个体植株根据同工酶谱仍可划分为3个明显的酶谱表征群,A-SSAC-0.82表征群由a,b两个亚表征群构成,采自群体A的10株植物均很好地群集于亚表征群a中,而来自B群体的15个个体也较紧密地团聚在亚表征群b中;B-SSAC-0.82表征群由c,d两个亚表征群构成,c亚表征群全由D群体的植株组成,E群体的个体很好地团聚在e亚表征群中;C-SSAC-0.82表征群均由群体C的植株组成,但群体C部分个体间的酶谱变异较大。在Sokal-Sneath结合系数的加权平均法聚类图中(图4),同样的可看出来自群体A(1~10号),B(11~25号)及C(26~31号)的个体都明显地与来自相同群体植株团聚,而不同群体间植株在酶谱上表现出显著的区别,而群体D与E间相似性较大,部分采自群体D的个体(26~27号)与来自群体E的个体(28~31号)间在同工酶谱上有较高的相似性。

在Sokal-Michener结合系数(SMAC)的组平均法聚类图(图5)中的SMAC 0.69处可同样清楚地划分出3个表征群,A-SMAC-0.69表征群可进一步划分为a, b 2个亚群,a亚群全由来自A群体的1~10号个体紧密群聚而成,b亚群则全是由B群体的11~25号个体群聚组成,同样C-SMAC-0.69表征群全是由C群体的26~31号个体群聚构成,只有B-SMAC-0.69表征群包含的c, d亚群由群体D和E的个体混合组成,表现出D群体的部分个体与E群体的个体间在同工酶谱上的较大相似性。对SMAC的加权平均法聚类结果(图6)亦显示出类似的规律,只是C群体内呈现了更大的变异性。

综上所述,多辐溲疏多数同一群体(如A,B及C群体)的植物个体在叶片过氧化物酶、过氧化氢酶、酯酶、淀粉酶、柠檬酸脱氢酶及谷氨酸脱氢酶6种同工酶的谱带位置上表现出极大的相似性,即群体内个体间表现出极大的遗传同质性,相反,来源于不同群体的个体却在谱带位置上表现出明显的趋异性,这在A, B及C群体上表现更明显,虽然D与E群体个体间表现出较高的同工酶谱相似性,但它们相同小群体的个体间仍呈现出较好的群聚,总体上显示出酶谱带位置与群体生长的海拔和生境有较显著的相关性,即不同海拔与生境在6种同工酶谱带位置上表现出明显的特有性。这与其分布模式和生殖特性有关,推测它曾经是成片分布(He等, 1994),而现在却退缩呈岛屿状的群体散布于非常狭窄的区域内,空间隔离限制了群体间个体的相互基因交流,在长期的进化过程中那些适应新的生境的遗传变异体得以保存下来,致使群体间在酶谱带位置上愈来愈呈现较强的趋异性,而不同生境只不过对多辐溲疏群体那些适应这些生境的遗传变异起了选择固定作用。相反,虽然同一群体内植株间通过异花传粉能在个体间实现频繁的基因交流而增加其遗传异质性,但因该种虽能正常开花传粉,其大多数种子不育,所以这种群体内个体间异花传粉导致的丰富遗传变异性多数不能通过种子繁殖形式一代代成功地固定下来。南川金佛山海拔600~1200 m区域,目前虽能为该种提供少数岛屿状的适宜生境,但如果这些岛屿状生境发生变化,而多辐溲疏又不能提供新的遗传变异源,则该种的发展前景是堪忧的。

参 考 文 献

王文采, 1983. 四川溲疏属三新种. 植物研究, 3(2): 82

史尼斯 P, 索卡尔 R 著(赵铁桥译), 1984. 数量分类学. 北京: 科学出版社, 97

吴少伯, 1979. 植物组织中蛋白质及同工酶的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳. 植物生理通讯, 1: 30

钟 扬, 陈家宽, 黄德世, 1990. 数量分类的方法与程序. 武汉: 武汉大学出版社, 203

胡能书, 万贤国, 1985. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 112

黄庆榴, 1985. 植物发育过程中不同器官各种组织的酯酶、过氧化物酯、过氧化氢酶、淀粉酶和几种脱氢酶同工酶鉴定. 见：薛应龙主编，植物生理学实验手册. 上海：上海科学技术出版社，344

黄淑美, 1993. 中国溲疏属的分类与地理分布. 植物分类学报, **31**(2): 105

He Ping, 1990. Taxonomy of *Deutzia* (Hydrangeaceae) from Sichuan, China. *Phytologia,* **69**(5): 332

He Ping, Pang Tichang, 1994. Multivariate analyses of varitaion pattern in the *Deutzia multiradiata* group (Hydrangeaceae) in Mt. Jinfo of Nanchuan. *J SW Chin Norm Univ* (Sci Nat), **19**(4): 409